



Università degli Studi di Cagliari

**DOTTORATO DI RICERCA  
IN BIOLOGIA E BIOCHIMICA DELL'UOMO E DELL'AMBIENTE**

Ciclo XXVI

**VALUTAZIONE DEGLI AGGIUSTAMENTI CARDIOCIRCOLATORI  
DURANTE APNEA STATICA E DINAMICA IN APNEISTI D'ELITÈ,  
MEDIANTE L'USO DI UN DISPOSITIVO PORTATILE**

Settore scientifico disciplinare di afferenza

**M-EDF/02 METODI E DIDATTICHE DELLE ATTIVITÀ SPORTIVE**

Presentata da:

Dott. Matteo Pusceddu

Coordinatore Dottorato

Prof. Enzo Tramontano

Relatore

Prof. Alberto Concu

Esame finale anno accademico 2012 – 2013



## INDICE

### INTRODUZIONE

Cenni storici .....	5
Classificazione dell'apnea agonistica.....	6
Fisiologia dell'apnea .....	9
L'innesco del punto di rottura .....	10
Limiti all'attività d'immersione in apnea.....	11
L'estensione del tempo d'apnea.....	12
Riflesso da immersione .....	14
Variazioni cronotrope negli uomini in apnea.....	15
Aggiustamenti cardiocircolatori e metabolici in apnea.....	16
Obiettivi dello studio e ripercussioni sul panorama sportivo subacqueo.....	19

### MATERIALI E METODI

Soggetti .....	21
Protocollo sperimentale .....	22
Misurazioni cardiocircolatorie .....	24
Analisi statistiche .....	27

### RISULTATI .....

### DISCUSSIONE .....

### LIMITI DELLO STUDIO E CONCLUSIONI PRATICHE .....

### BIBLIOGRAFIA .....

<b>FIGURE.....</b>	<b>48</b>
<b>GRAFICI E TABELLE .....</b>	<b>51</b>

## INTRODUZIONE

### Cenni storici

Fin dalla sua comparsa sulla Terra, l'uomo ha praticato immersioni in apnea (*"skin diving"*), procacciandosi cibo per il sostentamento, raccogliendo spugne e perle per il commercio, studiando la fauna marina per scopi scientifici. A tutt'oggi, alcune popolazioni continuano a praticare l'apnea per professione, ne sono un esempio le *ama* giapponesi e coreane (*Cachido ama*), che sono conosciute per la pesca delle perle, e soprattutto per le immersioni in cerca dei frutti di mare. Anche i pescatori di perle di *Tuamotu* (uomini) sono esperti apneisti che si immergono superando regolarmente i 30 metri di profondità; essi vanno incontro anche a frequenti incidenti di iperbarismo, dimostrando che tanto più è profonda l'immersione tanto maggiori sono i rischi che si corrono. Indubbiamente, lo sviluppo della tecnologia, l'aumento dell'inquinamento e l'esaurimento delle risorse marine, hanno contribuito a favorire il declino delle professioni legate all'immersione in apnea. Si pensi alla coltivazione delle perle, che ha eliminato la necessità di immergersi in profondità, o la diffusione della muta e dell'autorespiratore, che hanno esteso i tempi d'immersione in apnea rendendo il commercio più competitivo.

## **Classificazione dell'apnea agonistica**

L'apnea agonistica è classificata in tre diverse discipline:

- 1) **apnea statica**
- 2) **apnea dinamica**
- 3) **apnea profonda**

Quest'ultima disciplina presenta un' ulteriore suddivisione : **apnea in assetto costante, apnea in assetto variabile regolamentato e apnea in assetto variabile assoluto.**

L'**Association Internationale pour le Développement de l'Apnée** (AIDA) regola le competizioni di immersione in apnea a livello mondiale e riconosce ben otto discipline differenti:

**Assetto variabile assoluto** (No Limit, NLT)

**Assetto variabile** (Variable Weight, VWT)

**Assetto costante con le pinne** (Costant Weight, CWT)

**Assetto costante senza pinne** (Costant Weight Without Fins, CNF)

**Apnea libera** (Free Immersion, FIM)

**Dinamica con le pinne** (Dynamic With Fins, DYN)

**Dinamica senza pinne** (Dynamic Without Fins, DNF)

**Apnea statica** (Static Apnea, STA).

Nell'**assetto variabile assoluto**, si esegue la discesa con l'aiuto di una slitta, la risalita viene effettuata generalmente utilizzando un apposito pallone.

Nell'**assetto variabile** la discesa viene eseguita con l'ausilio di una slitta, che verrà successivamente lasciata sul fondo, si risale con le proprie forze senza o con l'aiuto del cavo guida.

Nell'**assetto costante senza pinne** la discesa e la risalita devono essere eseguite con la sola forza muscolare, non è consentito l'utilizzo di alcun tipo di attrezzatura né l'ausilio del cavo guida.

Nell'**assetto costante con le pinne**, l'apneista può avvalersi dell'aiuto di attrezzature (pinne o monopinna), ed è consentito aiutarsi utilizzando il cavo guida solo per arrestare la discesa e iniziare la salita.

L'**immersione libera**, viene eseguita senza alcun tipo di attrezzatura, in cui l'apneista scende e risale utilizzando il cavo guida, la discesa è consentita sia a testa in giù che a testa in su.

Nella **dinamica con le pinne**, l'apneista è posizionato orizzontalmente con il corpo immerso sotto la superficie dell'acqua, e con il solo ausilio delle pinne o della monopinna, deve coprire la massima distanza possibile. Non è consentito alcun movimento delle braccia. Per essere ritenute ufficialmente valide, le prestazioni in questa disciplina devono essere eseguite in piscine della lunghezza minima di 25 metri.

Nella **dinamica senza pinne**, l'apneista è posizionato orizzontalmente con il corpo immerso sotto la superficie dell'acqua, e senza alcun aiuto, tranne il solo movimento delle braccia, deve coprire la massima distanza possibile.

Per essere ritenute ufficialmente valide, le prestazioni in questa disciplina devono essere eseguite in piscine della lunghezza minima di 25 metri.

L'**apnea statica**, consiste nel mantenere il più a lungo possibile l'apnea in acqua, sia in piscina o acque libere, ed è l'unica specialità dove il tempo d'immersione è fondamentale e identifica il risultato.



## Fisiologia dell'apnea

La *capacità d'apnea* è condizionata da diversi fattori che ne limitano sia la durata che la profondità massima. Per stimare la *profondità massima teorica* raggiungibile in apnea, in passato è stato utilizzato il rapporto tra la capacità polmonare totale (CPT) e il volume residuo (VR) misurati in superficie, stabilendo la profondità critica che si poteva raggiungere prima di incorrere in un collasso irreversibile dei polmoni (*“maximum thoracic squeeze”*). Studi successivi, hanno smentito il valore scientifico di tale rapporto (CPT/VR), che sottovalutava la capacità di molti apneisti di immergersi in profondità, senza manifestare segni e sintomi di compressione polmonare. Con Morelli e Data (1991), durante un'immersione, è stata realizzata la dimostrazione radiologica che il volume polmonare si riduce anche al disotto del VR, a causa dell'innalzamento del diaframma (Buono, 1983), e della ridistribuzione del flusso ematico (*“blood shift”*) dalla periferia verso il torace, che compensa la riduzione volumetrica dei gas polmonari all'aumentare della pressione idrostatica (Landsberg, 1975), assicurando, inoltre, un costante apporto di sangue agli organi più sensibili all'ipossia: cuore, cervello e reni.

## **L'innescò del punto di rottura**

I ricercatori hanno individuato due fasi che determinano la durata *dell'apnea*.

Il “*punto di rottura fisiologico*” (*physiological breaking point*) o “easy-going phase” [cioè “scorrevole, che non presenta difficoltà” ] (Dejours, 1965), in cui il “desiderio di respirare” si manifesta con “contrazioni del diaframma”, che sottolineano uno stato di affaticamento o di stiramento da parte di questo muscolo; a tali contrazioni è ancora possibile resistere, tramite uno sforzo volontario. Il punto di rottura fisiologico sopraggiunge all'interno di un ristretto raggio di pressione parziale arteriosa di CO<sub>2</sub> [PaCO<sub>2</sub>] (Lin et al., 1983), che varia secondo diversi studi da 47,7 mm Hg a 47,9 mm Hg diversamente da quello convenzionale che è un limite più individuale ed allenabile.

La seconda fase in cui la glottide si apre, stabilendo la *durata massima* dell'apnea è detta “*punto di rottura convenzionale*”, “*punto di rottura massimo*” o semplicemente, “*punto di rottura*” [*breaking point*] (Lin et al., 1974). Questa fase è molto soggettiva e condizionata da diverse variabili, quali: la disponibilità dell'ossigeno nell'organismo, la temperatura dell'acqua, i fattori psicologici ed il dispendio energetico del soggetto, che differenziano l'ampia variabilità dei tempi riportati in letteratura.

## **Limiti all'attività d'immersione in apnea**

La compressione del torace, la riduzione della pressione parziale d'ossigeno alveolare [ $pAO_2$ ], l'ipercapnia e l'aumento del metabolismo, sono quindi eventi che possono condizionare e modificare l'attività e il tempo d'immersione in apnea. La durata dell'apnea è inversamente proporzionale al consumo di ossigeno [ $VO_2$ ] (Lin et al., 1974), ed infatti la  $pAO_2$  diminuisce molto più rapidamente durante *esercizio* che non a riposo (Craig, 1961), per l'aumento della diffusione dell'ossigeno verso il sangue, con la conseguenza che i tempi dell'apnea possono accorciarsi (Craig e Cummings, 1958).

Oltre ad aumentare i rischi legati all'ipotermia (aritmie, obnubilamento del sensorio, perdita di coscienza e annegamento) l'acqua fredda riduce il tempo d'apnea. Sterba e Lundgren (1985), rilevarono una stretta correlazione fra il tempo d'apnea e la *temperatura dell'acqua*, osservando che ad una diminuzione dei tempi d'apnea in acqua fredda corrisponde un maggior consumo d'ossigeno. Infatti, con l'introduzione delle mute si è assistito ad un progressivo aumento dei tempi d'immersione (Kang e al., 1983).

## **L'estensione del tempo d'apnea**

Il tempo d'apnea può essere prolungato attraverso l'*iperventilazione*, manovra in grado di ritardare la comparsa dell'*ipercapnia*, che fisiologicamente stimola la ripresa del respiro attraverso la stimolazione dei chemiocettori prima che la  $PaO_2$  scenda sotto valori pericolosi, preservando dalla perdita di coscienza. Un'eccessiva iperventilazione, pertanto, anticipa la soglia critica di ipossia che arriva prima dell'*ipercapnia*, determinando la perdita di coscienza dell'apneista (*sincope o black-out*). Inoltre, i processi d'adattamento risultanti dalla continua esposizione all'apnea sott'acqua conducono ad un aumento: della *capacità polmonare* (Shiraki et al., 1985), della *tolleranza alla  $PaCO_2$* , e della *resistenza alla bassa  $PaO_2$* , migliorando la capacità d'apnea. Gli stessi nuotatori, allenati all'apnea, rivelano una bradicardia più pronunciata ed una durata d'apnea maggiore rispetto a soggetti non allenati (Irving, 1963; Schagatay, 1991).

Anche il *rallentamento del metabolismo*, sembra favorire la durata totale dell'apnea. Molti subacquei d'élite, digiunano dalla notte prima o diverse ore, prima della gara (Chen et al., 2008), al fine di abbassare il consumo d'ossigeno, e ridurre la produzione di anidride carbonica, che a sua volta rinvierà le contrazioni involontarie del diaframma (le quali possono notevolmente aumentare il tasso metabolico) e la cessazione dell'apnea (Lin et al., 1974). Per questa ragione, il digiuno può effettivamente ritardare le contrazioni diaframmatiche e prolungare la durata totale dell'apnea senza

crescenti rischi di sincope (Eyolfson et al., 2001; Lindholm et al., 2007; Schagatay e Lodin-Sundstrom 2012).

Alla luce della numerosità e complessità dei meccanismi che regolano durata e profondità dell'apnea, si può quindi concludere che dei rigidi concetti di soglia chimica e/o meccanica non sono sufficienti a dare un'interpretazione del concetto convenzionale di punto di rottura (Godfrey e Campbell, 1968), tanto più che alcuni autori attribuiscono a *fattori psicologici* un ruolo determinante nella cessazione dell'apnea (Dejours, 1965; Hickey e Lundgren, 1984; Hentsch e Ulmer, 1984).

## **Riflesso da immersione**

Con il termine “*riflesso da immersione*” o “*diving reflex*” si indicano una sequenza di aggiustamenti cardiocircolatori, respiratori e metabolici, generati dall’apnea e dal contatto del viso con l’acqua (Bert, 1870), che consentono ai mammiferi marini di conservare l’ossigeno, al fine di prolungare il tempo d’immersione. Gli aggiustamenti includono: bradicardia, portata cardiaca diminuita, rallentamento del metabolismo, vasocostrizione periferica, ridistribuzione del flusso sanguigno e accumulo di lattato nei muscoli poco perfusi. Anche gli esseri umani mostrano una risposta all’immersione (Irving, 1963) che è simile, ma, generalmente, meno pronunciata rispetto a quella dei mammiferi marini (Lin, 1982).

## **Variazioni cronotrope negli uomini in apnea**

Negli esseri umani, il contatto diretto dell'acqua sulla fronte, occhi e naso, rappresenta un potente stimolo per provocare il riflesso da immersione (Daly, 1997). Inoltre, è stato ripetutamente osservato che anche la sola apnea a riposo, "a secco", genera *bradycardia* (Irving, 1963; Gooden e al., 1978; Scott e Candler, 1990); il riflesso cronotropo risulta ancora più pronunciato nel corso d'immersione: del viso (Stromme et al., 1970), di tutto corpo, e in acqua fredda (Knight e Horvath, 1987), dove la frequenza cardiaca diminuisce fino a 20-30 battiti per minuto (Ferrigno et al., 1997), e persiste, anche, durante un esercizio muscolare (Scholander et al., 1962), o a dispetto di una vigorosa azione di nuoto subacqueo (Irving, 1963).

## **Aggiustamenti cardiocircolatori e metabolici in apnea**

In seguito all'immersione, negli uomini, come nei mammiferi marini, si verifica un aumento delle *resistenze vascolari periferiche* (SVR), dovuto alla stimolazione del sistema nervoso simpatico, con una conseguente ridistribuzione del circolo conosciuta con il nome di "*blood shift*". La ridistribuzione del flusso ematico avviene dalla periferia verso il centro, garantendo agli organi vitali (cuore, cervello, reni) un apporto costante di ossigeno. Sono, però, stati avanzati molti dubbi sul fatto che l'uomo possieda o meno una risposta cardiocircolatoria così intensa e rapida da garantire un'efficace conservazione dell'ossigeno (Lin et al., 1975); questa sarebbe, infatti, meno estesa ed immediata (Schilling et al., 1984) rispetto agli aggiustamenti emodinamici che si manifestano nei mammiferi marini, dove la vasocostrizione è così intensa che l'afflusso sanguigno quasi si interrompe in distretti quali la cute ed il muscolo scheletrico. Secondo calcoli basati sui dati disponibili, negli uomini, le SVR aumentano dal 26 al 33% (Whayne et al., 1972), con una risposta ipertensiva intorno ai 280/200 mm Hg (Ferrigno et al., 1997), mentre quelle registrate negli animali marini sono da 4 a 10 volte superiori (Blix e Folkow, 1983), cosicché la *pressione arteriosa media* (MBP) è mantenuta costante nonostante un drastico calo della portata cardiaca (CO). Dal momento che la *gittata sistolica* (SV) rimane inalterata o subisce soltanto una leggera riduzione, la riduzione della CO è approssimativamente proporzionale alla diminuzione della frequenza cardiaca (HR) che



l'accompagna (Angell-James e de Burgh Daly, 1972). Per questa ragione, durante l'apnea, non possiamo essere certi che gli uomini siano in grado di conservare l'ossigeno in maniera efficace (Lin et al., 1975). Quindi, se l'ossigeno disponibile viene preferenzialmente indirizzato agli organi più sensibili all'ipossia come il cuore ed il cervello, ed ai muscoli in movimento (Butler et al, 1987), gli altri organi dipendono principalmente dal *metabolismo anaerobico* (Kooyman, 1989).

La tendenza ad aumentare il tempo di apnea, dopo diverse apnee in seguito ad uno specifico allenamento all'apnea, suggerisce che soggetti abituati all'immersione possano adeguarsi più efficacemente alla situazione d'immersione rispetto a coloro che non hanno esperienza. Il motivo non sembra essere dovuto né ad un aumento della risposta all'immersione né a cambiamenti della capacità polmonare e nemmeno all'iperventilazione (Schagatay et al., 1999). Un fattore che potrebbe essere coinvolto è la contrazione della milza dopo l'immersione accompagnata da un aumento dell'ematocrito (Hurford et al., 1990). Pertanto, la contrazione della milza sembra essere responsabile di un progressivo allungamento delle immersioni in apnea, preservando e risparmiando l'utilizzo dell'ossigeno (Liner et al., 1993; Schagatay et al., 2001; Bakovic et al., 2003).

Anche l'aumento del lattato ematico (BLa), durante un'immersione, è segno evidente di una riduzione dell'apporto d'ossigeno. Il BLa aumenta in seguito ad un'apnea eseguita a "secco" e ancor più dopo l'immersione del viso,

suggerendo un maggiore ricorso al metabolismo anaerobico (Andersson et al., 2004).

La prontezza e l'intensità degli aggiustamenti cardiometabolici, tipica dei mammiferi acquatici e degli uccelli marini, e non dell'uomo, evidenzia l'ampia diversità che caratterizza le diverse specie, tranne che per la bradicardia che sembra essere l'unica ben nota risposta all'apnea che gli uomini condividono con le specie marine (Craig, 1963).

## **Obiettivi dello studio e ripercussioni sul panorama sportivo subacqueo**

Con la crescente popolarità degli sport subacquei, gli incidenti e i rischi sono diventati molto più frequenti. La fruizione in tutta sicurezza di questi sport è legata alla consapevolezza dei limiti fisiologici dell'uomo in apnea che aumenta la pratica corretta delle immersioni. Le ricerche sull'apnea aprono a nuove conoscenze della fisiopatologia umana con possibili applicazioni pratiche in medicina, in riferimento a fenomeni come l'annegamento, le apnee notturne o alcune forme di aritmie.

Indubbiamente, la valutazione degli aggiustamenti cardiocircolatori durante le immersioni in apnea, è resa difficile dalla difficoltà di effettuare misure emodinamiche sott'acqua. La maggior parte degli studi hanno cercato di riprodurre situazioni simili alla reale condizione d'immersione: soggetti immersi con la testa fuori dall'acqua (Shiraki et al., 1986), apneisti in esercizio sul cicloergometro col viso immerso in un recipiente pieno d'acqua (Andersson et al., 2004; Tocco et al., 2012), e studi all'interno di una camera iperbarica (Ferrigno et al., 1997). Più recentemente, per mezzo di misurazioni ecografiche sott'acqua durante apnea statica, Marabotti et al. (2008, 2009 a, b) hanno attribuito un ruolo di primo piano all'aumento della pressione nel determinare la risposta cardiaca tipica dell'immersione: una riduzione della HR, della SV e della CO, simile a quella descritta nei mammiferi marini (Lin 1988; Butler e Jones 1997). Tuttavia, ad oggi, nessuno ha mai effettuato misure emodinamiche nel corso di apnea dinamica in immersione. Pertanto,

sinora, le uniche misurazioni cardiocircolatorie realizzate sono state effettuate durante apnea statica, o in laboratorio, simulando una situazione di apnea dinamica (Lindholm et al. 1999, 2002).

L'obiettivo di questo studio è stato quello di misurare e ampliare le conoscenze attuali sugli aggiustamenti cardiometabolici nell'apnea statica, e per la *prima volta*, sono state eseguite misurazioni emodinamiche in apnea dinamica subacquea. In quest'ultima condizione è possibile ipotizzare che l'attivazione simpatica dovuta all'azione dei muscoli in esercizio ( $\uparrow$ HR,  $\uparrow$ SV,  $\uparrow$ CO, vasodilatazione periferica,  $\leftrightarrow/\uparrow$ MBP,  $\uparrow$  consumo di ossigeno) possa agire in contrasto con gli aggiustamenti emodinamici indotti dal riflesso da immersione ( $\downarrow$ HR,  $\leftrightarrow/\uparrow$ SV,  $\downarrow$ CO, vasocostrizione periferica, redistribuzione del flusso ematico verso gli organi più sensibili all'ipossia,  $\leftrightarrow/\uparrow$ MBP,  $\downarrow$  consumo di ossigeno). Pertanto, attraverso l'utilizzo di misurazioni emodinamiche non invasive, abbiamo studiato l'andamento della CO e della SV, correlato alle più conosciute modificazioni della HR, al fine di intensificare la ricerca sugli aggiustamenti cardiocircolatori indotti dal "*diving reflex*" in condizioni di apnea statica. Ma soprattutto, rispetto agli *studi precedenti*, abbiamo caratterizzato il profilo emodinamico durante un'immersione in apnea dinamica.

## **MATERIALI E METODI**

### **Soggetti**

Per la presente ricerca, sono stati reclutati 12 apneisti sani (11 maschi e 1 femmina), la cui età media era di 38.8 anni  $\pm$  5.8 DS, statura media di 170.8 cm  $\pm$  5.2 DS, e massa corporea media di 67.4 kg  $\pm$  8.8 DS. La presenza di una sola donna è stata del tutto casuale, legata alla minore presenza femminile in questo sport e non dovuta ad una scelta consapevole durante il processo di campionamento. In accordo con la dichiarazione di Helsinki, e conformemente alle norme del Good Publishing Practice in Physiology (Persson & Henriksson 2011), tutti i partecipanti sono stati informati sugli obiettivi della ricerca e sulle procedure ed i rischi che questa avrebbe potuto comportare.

## Protocollo sperimentale

I cambiamenti emodinamici sono stati verificati durante l'apnea statica e quella dinamica in una piscina profonda 3 metri, con la temperatura dell'acqua intorno ai 25°C. In dettaglio, ogni soggetto, nel corso di una sessione, effettuava cinque prove:

**Test A:** immersione di 3 minuti, con la testa fuori dall'acqua, in condizione di eupnea (Fig.1). Questa situazione ha fornito i valori di riferimento (*basali*).

**Test B:** in questa prova, gli apneisti eseguivano un'apnea statica di 3 minuti, con il corpo immerso totalmente in acqua, in superficie (Fig.2).

**Test C:** gli apneisti eseguivano un'apnea statica di 3 minuti, immersi a 3 metri di profondità sul fondo della piscina (Fig.3).

**Test D:** gli apneisti eseguivano un'apnea dinamica massimale, pinneggiando in superficie (Fig.4).

**Test E:** l'apneista eseguiva un'apnea dinamica massimale, nuotando sul fondo della piscina (Fig.5).

Durante le prove di apnea dinamica, ai soggetti è stata data istruzione di mantenere una velocità costante di circa  $0.5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , secondo gli usuali metodi d'allenamento ed il rispetto effettivo della velocità è stato misurato con un cronometro standard. Tutti gli apneisti, non potevano eseguire manovre di iperventilazione, ma solo un'inspirazione massimale, prima di effettuare le varie prove in apnea. Nel corso dei test C ed E, sono stati usati dei pesi

applicati alla vita, scelti sulla base dell'esperienza personale dei soggetti e della propria massa corporea, in modo da contrastare la spinta idrostatica. Ciascun soggetto è stato connesso ad un cardiografo ad impedenza portatile (New Core, 2C Technologies, Cagliari, Italy). tramite un cavo collegato da 8 elettrodi adesivi applicati al torace ed al collo; questi ultimi erano protetti dall'acqua mediante dei cerotti stagni di 15\*10 cm [Plastod, Bologna, Italy], (Fig.6). Una volta connessi gli apneisti indossavano una muta subacquea, le pinne e la maschera. Alla fine di ogni prova, si controllava la condizione degli elettrodi per attestarne la loro condizione di impermeabilità.

L'inizio delle cinque prove, era preceduto da alcune misurazioni: della saturazione di ossigeno del sangue arterioso ( $\text{SaO}_2$ ) (mediante saturimetro Biox 3740 Pulse Oximeter, Ohmeda), della pressione arteriosa (con uno sfigmomanometro manuale standard) e della concentrazione di lattato nel sangue (BLa, Lactate pro, Arkray, Kyoto, Japan); le misurazioni erano ripetute anche immediatamente al termine di ogni prova, con l'eccezione del prelievo di lattato che avveniva dopo circa 30" dalla fine di ciascun test.

## **Misurazioni cardiocircolatorie**

Tutte le misurazioni cardiocircolatorie sono state eseguite mediante l'uso di un cardiografo ad impedenza, strumento che consente il monitoraggio emodinamico continuo in soggetti a riposo o in esercizio (Belardinelli et al. 1996, Charloux et al. 2000, Richard et al. 2001, Crisafulli et al. 2003a,b, 2011), e fornisce dati affidabili e non invasivi, riguardanti: l'impedenza transtoracica (TFI), il tempo di eiezione del ventricolo sinistro (VET), la SV, la HR e la CO. L'impedenza rappresenta la resistenza offerta dal corpo umano al passaggio della corrente elettrica, quando questo è sottoposto ad una differenza di potenziale continuo, così che la corrente scorre all'interno del corpo umano, con modalità differente a seconda del grado di resistenza offerta dai tessuti attraversati. Le uniche due sostanze che vanno soggette a modificazioni quantitative all'interno del torace sono aria e sangue. Dato che è possibile differenziare in termini di frequenza le variazioni legate al flusso di queste due componenti, i cambiamenti dell'impedenza elettrica, nel momento della sistole, sono rappresentativi della SV (Warburton et al. 1999).

Come accennato in precedenza, per l'applicazione della metodica dell'impedenza nei nostri apneisti, si è ricorso ad un dispositivo miniaturizzato e portatile, posizionato all'interno di una torcia impermeabile, resistente sino a 90 metri di profondità (Fig.7).

L'impedenza elettrica è stata utilizzata in passato in altri nostri studi su soggetti in esercizio (Crisafulli et al. 2003a,b, 2007, 2008), e riteniamo possa



ben descrivere i cambiamenti cardiocircolatori, in una situazione più vicina all'apnea reale, rispetto a quanto è stato fatto in precedenza. Il New Core registrava, per tutta la durata dell'esperimento, in una scheda di memoria digitale (secure digital memory card) i tracciati dell'impedenza e dell'elettrocardiogramma (ECG), i quali erano successivamente analizzati attraverso un software (ADInstruments, PowerLab 8sp, Castle Hill, Australia), al fine di ottenere i dati dei valori emodinamici.

La SV è stata calcolata dall'equazione di Sramek-Bernstein (Bernstein 1986):

$$SV = (VEPT \cdot Z_0^{-1}) \cdot dZ/dt_{max} \cdot VET$$

Dove il **VEPT**, è il volume di tessuto che partecipa alla conduzione elettrica e dipende dalla lunghezza **L** del tronco ( $VEPT = L^3/4.25$ ), mentre **Z<sub>0</sub>** rappresenta l'impedenza toracica, **dZ/dt<sub>max</sub>** rappresenta la variazione massima dell'impedenza toracica, ed infine, il **VET**, è il tempo di eiezione del ventricolo sinistro. La HR è stata calcolata come il reciproco dell'intervallo R-R nella traccia ECG e la CO dal prodotto della SV per la HR.

E' stata calcolata anche la frequenza media del tempo di eiezione sistolica, ottenuta come rapporto tra la SV e il VET, considerato un valido indice della contrattilità miocardica (Tanaka et al. 1986, Concu & Marcello 1993). Infine, dal rapporto tra la MBP (calcolata come pressione sanguigna diastolica + 1/3 pressione sanguigna sistolica – pressione sanguigna diastolica) e la CO, sono state calcolate le SVR.

La validazione del New Core, è stata effettuata confrontando il prototipo con un altro cardiografo ad impedenza (NCCCOM3-R7, BoMed, Irvine, CA, USA) già validato ed ampiamente utilizzato in clinica e ricerca (Moore et al. 1992, Thomas 1992). I valori della SV sono stati confrontati utilizzando entrambi gli strumenti su 18 soggetti maschi (età media di 28.8 anni  $\pm$  5.1 DS, statura media di 175.8 cm  $\pm$  3.9 DS e massa corporea di 66.8 kg  $\pm$  DS 6.1) in condizioni di riposo e di esercizio svolto sino a 70% della frequenza cardiaca massima, calcolata con la formula 220 meno l'età.

## **Analisi statistiche**

Si è utilizzata la statistica di Bland e Altman (Bland & Altman 1986) per confrontare i valori della SV ricavati col New Core rispetto a quelli acquisiti con il NCCOM3-R7.

I valori ottenuti durante le immersioni, data la presenza di soggetti con diversa massa corporea, sono stati espressi in variazioni percentuali rispetto al valore a riposo. La scelta di usare le variazioni percentuali, ha permesso di limitare la varianza interindividuale e di evidenziare meglio le piccole perturbazioni dei parametri rispetto a quanto espresso dall'uso di valori assoluti. L'analisi della varianza (ANOVA) a una via, per misurazioni ripetute, è stata applicata per determinare la significatività tra le varie fasi del protocollo, ed il test Newman – Keuls è stato eseguito quando appropriato. La significatività è stata posta per  $P < 0.05$ .

## RISULTATI

La validità del cardiografo ad impedenza New Core è stata valutata mediante analisi statistica di Bland e Altman; i dati ottenuti hanno mostrato una buona concordanza con quelli registrati dal cardiografo di riferimento NCCOM3-R7, sia in condizioni di riposo che in attività (Grafico 1).

I valori assoluti dei dati emodinamici e metabolici, nel corso del test A che forniscono i dati a riposo, sono riportati nella Tabella 1. La durata media dell'apnea dinamica per i test D ed E è stata rispettivamente di  $95.9 \pm 15.2$  s e  $98 \pm 20.9$  s ( $P > 0.05$ ), che è approssimativamente, la metà della durata dei test B e C, eseguiti in apnea statica. I grafici (2-3-4) mostrano l'andamento temporale dei parametri misurati durante le diverse fasi del protocollo.

**HR.** Il grafico 2 mostra in dettaglio che durante le fasi di apnea statica (test B e C), la HR è significativamente diminuita (circa -17%) se confrontata coi valori di riferimento del test A, mentre durante le fasi di apnea dinamica, la frequenza cardiaca si è mantenuta vicina a quella di riferimento (test A).

**SV.** Anche la gittata sistolica (grafico 2) si è ridotta (circa -8%) nei test B e C, rimanendo invece pressoché costante nell'apnea dinamica (test D ed E).

**CO.** Come conseguenza del comportamento della HR e della SV, la CO (grafico 2) è diminuita (circa - 25%) nel corso dei test B e C, rispetto al test A, viceversa, la CO è leggermente aumentata nelle prove di apnea dinamica rispetto ai valori di apnea statica.

**SV/VET.** Nessuna differenza significativa è stata osservata in questo rapporto che è un importante indice di contrattilità miocardica, durante le diverse fasi della sperimentazione (grafico 3), e ciò significa che la contrattilità non è stata influenzata dalle manovre di apnea.

**MBP.** Un incremento della pressione arteriosa media (grafico 3) è stato rilevato nei test D ed E, se confrontati con il test A, mentre la MBP non si è modificata nei test di apnea statica (B e C).

**SVR.** Le prove di apnea statica hanno indotto un evidente aumento (circa +38%) delle resistenze vascolari sistemiche (grafico 3) rispetto al test A, mentre per le stesse non è stata osservata nessuna differenza durante le prove di apnea dinamica.

**TFI.** Il valore di TFI, indice di ritorno venoso e quindi riferibile in apnea al fenomeno del *blood shift*, è rimasto sostanzialmente invariato nel corso di tutte le fasi del protocollo (grafico 4).

**SaO<sub>2</sub>.** La saturazione di ossigeno del sangue arterioso (grafico 4) ha subito un leggero ma significativo decremento (circa -6%) durante i test B e C, se confrontata con il test A. Il decremento di SaO<sub>2</sub> è stato più pronunciato durante i test D ed E (circa -12%).

**BLa.** Infine, l'analisi dei livelli di lattato nel sangue (grafico 4) non ha mostrato alcuna variazione significativa tra le varie fasi del protocollo. Tale andamento potrebbe essere stato influenzato anche dalla notevole dispersione statistica

che ha caratterizzato i dati di lattato misurati, evidente nella figura osservando i valori dell'ampiezza della deviazione standard.

## DISCUSSIONE

L'obiettivo di questo studio è stato quello di misurare direttamente in acqua gli aggiustamenti cardiocircolatori del riflesso da immersione, mediante un nuovo dispositivo portatile subacqueo di cardiometria ad impedenza. In particolare per la *prima volta*, sono state eseguite misurazioni cardiocircolatorie in *apnea dinamica subacquea*, una condizione che presuppone l'innesco di due riflessi cardiocircolatori profondamente diversi: "*diving reflex*" e "*exercise pressor reflex*". Pertanto è possibile ipotizzare che l'attivazione simpatica dovuta all'azione dei muscoli in esercizio abbia potuto agire in contrasto con gli aggiustamenti emodinamici indotti dal riflesso da immersione. Oggetto dello studio è stata quindi anche la verifica di questa ipotesi.

A conferma dei dati presenti in letteratura, riferiti a misurazioni effettuate in apnea statica, anche i risultati ottenuti dal nostro studio mostrano che nei test di statica (B e C) si assiste ad una riduzione della HR e della SV, e conseguentemente ad una diminuzione della CO. Durante questa condizione si è verificato inoltre un aumento delle SVR che ha determinato il mantenimento della MBP che è rimasta dunque pressoché invariata rispetto ai valori basali di riferimento; pertanto si può concludere che nei nostri apneisti impegnati in apnea statica, il riflesso da immersione ha agito in modo da preservare l'omeostasi pressoria nonostante la riduzione di portata cardiaca concomitante. Questo ha permesso di raggiungere l'obiettivo di

risparmio di  $O_2$  e conseguente prolungamento del tempo di apnea, senza rischio di sincope. E' importante osservare che l'effetto di risparmio dell'ossigeno (*oxygen-sparing effect*), riconducibile al riflesso da immersione, sembra essere proporzionale, come testimoniato anche da precedenti ricerche (Lindholm e Lundgren 2009), al grado di bradicardia raggiunto dall'apneista.

Al contrario, durante le prove di apnea dinamica la HR e la SV hanno mantenuto gli stessi valori del test A, ossia sono rimasti sostanzialmente invariati, e questo ha permesso alla portata cardiaca di mantenersi invariata. Questo fenomeno, insieme con la leggera, anche se non significativa risposta delle SVR, ha condotto a un aumento moderato della MBP (circa +11%). In queste condizioni il risparmio di  $O_2$  non è stato garantito (grafico 3).

Ad oggi, questo è il primo studio che ha esaminato la risposta cardiocircolatoria durante esercitazioni di apnea dinamica reale negli esseri umani. In effetti, Marabotti et al. (2008, 2009a,b) si limitarono a studiare l'apnea statica subacquea mediante l'uso di un ecocardiografo, riscontrando una riduzione della CO, conseguente ad una diminuzione della HR e della SV. Il calo della CO fu attribuito all'aumento della pressione idrostatica, che agendo dall'esterno contro il torace, diminuisce la capacità di riempimento da parte del ventricolo sinistro. Nella succitata ricerca in effetti, le apnee statiche erano eseguite ad una profondità di 10 metri, con quindi un carico idrostatico aggiuntivo di 1 atm, condizione pertanto differente dalla nostra dove al



massimo era raggiunta in piscina una profondità di 3 metri. Pertanto nel nostro protocollo sperimentale la riduzione della CO durante apnea statica, non può essere addebitata alla stessa causa ed invece è stata semplicemente frutto del classico riflesso da immersione: la vasocostrizione periferica cui segue la redistribuzione del flusso ematico verso gli organi più sensibili all'ipossia, permette il mantenimento della MBP, nonostante una riduzione della portata cardiaca (conseguente alla bradicardia ed alla diminuzione della SV) con consumo di ossigeno ridotto.

Durante le fasi di apnea dinamica invece, la vasocostrizione è stata meno efficace, come verificato dal comportamento delle SVR nel grafico 3, probabilmente per l'opposto effetto vasodilatatorio indotto dall'attivazione simpatica. Questa osservazione è stata affiancata dalla notevole diminuzione della SaO<sub>2</sub> nelle sessioni di apnea dinamica, evidenziando un sostanziale aumento del consumo di ossigeno. Questo ci porta a sostenere come il supposto effetto di conservazione dell'ossigeno sia meno evidente nell'apnea dinamica, rispetto a quanto accade nelle fasi di apnea statica. Pertanto, è probabile che durante i test D ed E, la domanda energetica dei muscoli in attività, insieme all'attivazione delle aree di controllo cardiovascolare nel tronco encefalico, abbiano giocato un ruolo centrale nel neutralizzare gli effetti emodinamici del riflesso da immersione. Un simile conflitto tra l'attività simpatica e le risposte cardiovascolari dovute all'immersione è stato ipotizzato per le anatre tuffatrici, le quali, di solito, mostrano un aumento della

HR rispetto ai valori che hanno a riposo durante l'immersione (Butler e Jones 1997). E' noto, come durante l'attività fisica si ha un aumento del tono simpatico che garantisce un'adeguata risposta della MBP, e questo è rinforzato in particolare durante l'attività ipossica (Houssiere et al. 2005, 2006). Questo aumento deriva dall'integrazione di due principali meccanismi neurali: nel primo, comunemente chiamato "*comando centrale*", l'attivazione delle regioni cerebrali, responsabili del reclutamento dell'unità motoria, attiva anche le aree del controllo cardiovascolare, localizzate nel midollo (Rowell & O'Leary 1990, Strange et al. 1993); nel secondo, conosciuto col nome di "*riflesso pressorio di esercizio*", i recettori presenti all'interno dei muscoli attivano i nervi afferenti inducendo degli aggiustamenti cardiovascolari, sulla base della condizione meccanica e metabolica della contrazione muscolare (Rowell & O'Leary 1990, Strange et al. 1993). Sia il comando centrale che il riflesso pressorio di esercizio sono responsabili dell'attivazione simpatica, la quale, a sua volta, agisce sulla HR (*effetto cronotropo positivo*) e sulla contrattilità miocardica (*effetto inotropo positivo*), aumentando di conseguenza la CO (Boushel 2010). I nostri risultati suggeriscono che, durante le fasi di apnea dinamica, l'attivazione del comando centrale e del riflesso pressorio di esercizio potrebbero aver, almeno in parte, mascherato la tipica risposta emodinamica all'apnea: bradicardia, riduzione della SV e aumento delle SVR. In un nostro studio precedente, è riportata una risposta cardiocircolatoria simile: in apneisti in esercizio sul cicloergometro con la sola

immersione del viso nell'acqua, abbiamo misurato un aumento della contrattilità miocardica e della SV che hanno attenuato gli effetti cardiocircolatori indotti dal riflesso da immersione (Tocco et al. 2012).

Per quanto riguarda il comportamento della SV, si potrebbe ipotizzare che questo parametro potrebbe essere stato aumentato dall'attivazione del riflesso pressorio di esercizio nel corso dei test D ed E, dal momento che è stato dimostrato che questo riflesso può migliorare la contrattilità miocardica e la SV (Crisafulli et al. 2003b, 2008). Tuttavia tale ipotesi non si è verificata, probabilmente perché sia il riflesso da immersione che il calo della  $\text{SaO}_2$  hanno contrastato il riflesso pressorio di esercizio, evitando un conseguente aumento della contrattilità miocardica, come si evince dall'analisi del rapporto SV/VET. Anche i risultati ottenuti da Lindholm e coll. (2002) supportano le nostre conclusioni; tali autori hanno utilizzato un protocollo che portava a una de-saturazione del sangue arterioso e all'ipossiemia, e questa condizione portava ad una riduzione della contrattilità miocardica che impediva un aumento della SV. Ma, nello stesso esperimento, quando i soggetti respiravano una miscela composta al 95% di ossigeno prima di effettuare l'apnea, la SV aumentava del 14%, rinforzando l'ipotesi che sia l'ipossia a ridurre la contrattilità miocardica. Pertanto, questi dati sembrano confermare i nostri risultati durante l'apnea dinamica, quando si verifica una caduta della  $\text{SaO}_2$ . Ma comunque, non possiamo nemmeno escludere che la differenza di durata nelle due diverse tipologie d'apnea, possa aver giocato un ruolo

importante nell'innescare del riflesso da immersione, dal momento che nei test D ed E, gli apneisti hanno mantenuto l'apnea per metà tempo rispetto all'apnea statica. Infine, non si può peraltro escludere che, sebbene modesto, l'aumento della pressione idrostatica abbia probabilmente indotto una riduzione del volume toracico e della dilatazione cardiaca, con conseguente riduzione della SV (Marabotti et al. 2009a,b).

Di particolare interesse è stato anche il comportamento della MBP nelle nostre condizioni sperimentali. Abbiamo infatti scoperto che questo parametro non aumentava nelle fasi di apnea statica, come riportato invece da gran parte della letteratura scientifica (Bjertnæs et al. 1984, Ferrigno et al. 1997, Perini et al. 2010, Breskovic et al. 2011). Solo un'altra recente ricerca è giunta alla nostra stessa conclusione. Si tratta di uno studio condotto su un gruppo di apneisti da Sieber et al. (2009), mediante l'uso di un nuovo sfigmomanometro subacqueo, in cui non è stato riscontrato alcun aumento significativo della pressione, sia durante apnea in superficie che a 10 metri di profondità.

Per quanto riguarda il comportamento della MBP, la spiegazione comune fornita dalla letteratura evidenzia un contrasto tra quanto avviene nei mammiferi marini e l'uomo. Nei primi, la riduzione della CO è contrastata da un aumento bilanciato delle SVR con un mantenimento della MBP, mentre nell'uomo l'aumento delle SVR sarebbe sproporzionato con notevole aumento della MBP. Secondo noi, si dovrebbe considerare la possibilità che

negli apneisti esperti e allenati, come quelli che hanno partecipato alla nostra ricerca, gli aggiustamenti emodinamici siano più simili a quelli osservati nei mammiferi marini, rispetto agli aggiustamenti cardiocircolatori che avvengono negli individui non allenati.

Concludendo, il risultato più interessante di questo studio è stato che gli aggiustamenti emodinamici causati dall'attività fisica, nel corso dell'apnea dinamica subacquea reale, contrastano la classica risposta all'immersione osservata durante l'apnea statica. I dati hanno mostrato come l'esercizio eseguito nelle sessioni di apnea abbia determinato l'attivazione del tono simpatico per assicurare un'adeguata risposta della MBP, neutralizzando in questo modo gli effetti cardiovascolari del riflesso da immersione.

## **LIMITI DELLO STUDIO E CONCLUSIONI PRATICHE**

**Limitazioni.** Uno dei possibili limiti di questa ricerca è stata la presenza, tra gli apneisti, di un solo soggetto femminile. Questo fatto, casuale e indipendente dal processo di campionamento, può aver influenzato i risultati, dal momento che è noto che la risposta fisiologica all'attività fisica varia in base al sesso. Proprio per limitare l'influenza del sesso del soggetto sui risultati, abbiamo scelto di usare i cambiamenti percentuali dei parametri rispetto al loro valore basale, per descrivere la "time course" degli stessi, al posto dei valori assoluti. Questa procedura permette di limitare le differenze quantitative tra i soggetti, riducendo di conseguenza l'incidenza del sesso, ed evidenziando le variazioni qualitative nei parametri.

Inoltre, è opportuno anche evidenziare come in un nostro studio precedente si sia evidenziato un comportamento simile del riflesso da immersione tra i due sessi (Tocco et al. 2012). Perciò, è nostra opinione che la presenza di un solo soggetto femminile non abbia realmente influenzato il risultato di questa ricerca.

### **Ripercussioni pratiche della nostra ricerca.**

I benefici degli sport acquatici per gli uomini sono ben noti. Tuttavia, perché il divertimento in acqua resti tale è importante la conoscenza dei limiti dell'essere umano come soggetto in immersione. Perciò la fruizione in tutta sicurezza di tale disciplina è strettamente legata alla comprensione della fisiologia dell'immersione in apnea. Gli aggiustamenti cardiocircolatori indotti

dall'apnea mostrano potenziali applicazioni cliniche, oltre a fornire informazioni utili per migliorare l'allenamento in apnea. La capacità dei reni di eliminare liquidi corporei in eccesso, attraverso l'aumento della diuresi, la riduzione della frequenza cardiaca, negli stati ansiogeni, o il controllo della respirazione, per ricercare uno stato di rilassamento psicofisico, possono risultare utili a tali fini. Per quanto riguarda le implicazioni legate con il tipo di allenamento praticato, il nostro studio fornisce due principali indicazioni. La prima riguarda il ritardare il *punto di rottura fisiologico* e potenziare *l'effetto cronotopo negativo* che saranno un obiettivo primario da perseguire durante l'allenamento dell'apnea statica, al fine di ridurre il consumo d'ossigeno e prolungare il tempo d'immersione. La seconda, inerente l'apnea dinamica, riguarda l'importanza di allenare il gesto tecnico al fine di risparmiare più ossigeno e ridurre il dispendio energetico.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Agostoni E: Diaphragm activity during breath-holding: factors related to its onset. *J Appl Physiol* 8: 30-36, 1963.
- 2) Andersson, J., Linér, M., Fredsted, A. & Schagatay, E. Cardiovascular and respiratory responses to apneas with and without face immersion in exercising humans. *J Appl Physiol* 96: 1005–1010, 2004.
- 3) Angell-James JE., de Burgh Daly M. Some mechanisms involved in the cardiovascular adaptations to diving. *Symposia of the Society of Experimental Biology* No. XXVI, Cambridge University Press, Cambridge, 1972.
- 4) Bakovic D., Valic Z., Eterovic D., et al. Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas. *J Appl Physiol* 95: 1460-6, 2003.
- 5) Belardinelli, R., Ciampani, N., Costantini, C., Blandini, A. & Purcaro, A. Comparison of impedance cardiography with thermodilution and direct Fick methods for noninvasive measurement of stroke volume and cardiac output during incremental exercise in patients with ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 77: 1293–1301, 1996.
- 6) Bernstein, D.P. A new stroke volume equation for thoracic electrical bioimpedance: theory and rationale. *Crit Care Med* 14: 904–909, 1986.
- 7) Bert P. *Lecons sur la physiologie comparee de la respiration*, pp.526-553, Vailliere, Paris, 1870.
- 8) Bjertnæs, L., Hauge, J., Kjekshus, J. & Søyland, J. Cardiovascular responses to face immersion and apnea during steady state muscle exercise. *Acta Physiol Scand* 120: 605–612, 1984.
- 9) Bland, J.M. & Altman, D.G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1: 307–310, 1986.
- 10) Blix AS., Folkow B. Cardiovascular adjustments to diving in mammals and birds. In Shepherd & Abboud (Eds) *Handbook of*



- physiology: the cardiovascular system: III, pp. 917-945, American Physiological Society, Washington, D.C. 1983.
- 11) Boushel, R. Muscle metaboreflex control of the circulation during exercise. *Acta Physiol Scand* 199: 367–383, 2010.
  - 12) Breskovic, T., Uglesic, L., Zubin, P., Kuch, B., Kraljevic, J., Zanchi, J., Ljubkovic, M., Sieber, A. & Dujic, Z. Cardiovascular changes during underwater static and dynamic breathhold dives in trained divers. *J Appl Physiol* 111: 673–678, 2011.
  - 13) Buono MJ. Effect of central vascular engorgement and immersion on various lung volumes. *J Appl Physiol* 54: 1094-1096, 1983.
  - 14) Butler PJ., Woakes AJ. Heart rate in humans during under water swimming with and without breath-hold. *Respir Physiol* 69: 387-399, 1987.
  - 15) Butler, P.J. & Jones, D.R. Physiology of diving of birds and mammals. *Physiol Rev* 77: 837–899, 1997.
  - 16) Charloux, A., Lonsdorfer-Wolf, E., Richard, R., Lampert, E., Oswald-Mammosser, M., Mettauier, B., Geny, B. & Lonsdorfer, J. A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the “direct” Fick method. *Eur J Appl Physiol* 82: 313–320, 2000.
  - 17) Chen YJ., Wong SH., Wong CK., Lam CW., Huang YJ., Siu PM. The effect of a pre-exercise carbohydrate meal on immune responses to an endurance performance run. *The british journal of nutrition*. 100(6): 1260-1268, 2008.
  - 18) Concu, A. & Marcello, C. Stroke volume response to progressive exercise in athletes engaged in different types of training. *Eur J Appl Physiol* 66: 11–17, 1993.
  - 19) Craig FN, Cummings EG. Breath-holding during exercise. *J Appl Physiol* 13: 30-34, 1958.
  - 20) Craig AB. Causes' of loss of. consciousness during underwater swimming. *J Appl Physiol* 16: 583-586, 1961.

- 21) Craig AB. Heart rate responses to apnoeic underwater diving and to breath-holding in man. *J Appl Physiol* 18: 854-862, 1963.
- 22) Crisafulli, A., Orrù, V., Melis, F., Tocco, F. & Concu, A. Hemodynamics during active and passive recovery from a single bout of supramaximal exercise. *Eur J Appl Physiol* 89: 209–216, 2003a.
- 23) Crisafulli, A., Scott, A.C., Wensel, R., Davos, C.H., Francis, D.P., Pagliaro, P., Coats, A.J.S., Concu, A. & Piepoli, M. F. Muscle Metaboreflex-induced increases in stroke volume. *Med Sci Sports Exerc* 35: 221–228, 2003b.
- 24) Crisafulli, A., Salis, E., Tocco, F., Melis, F., Milia, R., Pittau, G., Caria, M.A., Solinas, R., Meloni, L., Pagliaro, P. & Concu, A. Impaired central hemodynamic response and exaggerated vasoconstriction during muscle metaboreflex activation in heart failure patients. *Am J Physiol* 292: 2988–2996, 2007.
- 25) Crisafulli, A., Milia, R., Lobina, A., Caddeo, M., Tocco, F., Concu, A. & Melis, F. Hemodynamic effect of metaboreflex activation in men after running above and below the velocity of the anaerobic threshold. *Exp Physiol* 93: 447–457, 2008.
- 26) Crisafulli, A., Tangianu, F., Tocco, F., Concu, A., Mameli, O., Mulliri, G. & Caria, M.A. Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygen uptake in humans. *J Appl Physiol* 111: 530–536, 2011.
- 27) Daly MDB. Peripheral arterial chemoreceptors and respiratory–cardiovascular integration. *Monogr Physiol Soc* 46, 1997.
- 28) Dejours P. Hazards of hypoxia during diving. In: Rahn H., Yokoyama T. (eds) *Physiology of breath-holding and the Ama of Japan*. National Academy of Science, National Reserch Council, Washington D.C., pp 183-193, 1965.
- 29) Eyolfson, D.A. , Tikuisis, P., Xu, X., Weseen, G., & Giesbrecht , G. G. Measurement and prediction of peak shivering intensity in humans. *European Journal of Applied Physiology* , 84(1-2): 100-106, (2001).
- 30) Ferrigno M., Ferretti G., Ellis A., Warkander D., Costa M., Cerretelli P., Lundgren CE. Cardiovascular changes during deep breath-hold dives in a pressure chamber. *J Appl Physiol* 83: 1282–1290, 1997.

- 31) Godfrey S., Campbell EJM. The control of breath-holding. *Respiration Physiology* 5: 385-400, 1968.
- 32) Gooden BA., Holdstock G., Hampton JR. The magnitude of the bradycardia induced by face immersion on patients convalescing from myocardial infarction. *Cardiovascular Research* 12: 239-242, 1978.
- 33) Hickey DD., Lundgren CEG. Breath-hold diving. In Shilling et al. (Eds). *The physician's guide to diving medicine*. Plenum Press, New York, 1984.
- 34) Hentsch U., Ulmer HV. Trainability of underwater breath-holding time. *Int J Sport Med* 5: 343-347, 1984.
- 35) Houssiere, A., Najem, B., Ciarka, A., Velez-Roa, S., Naeje, R. & van de Borne, P. Chemoreflex and metaboreflex control during static hypoxic exercise. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 288: 1724–1729, 2005.
- 36) Houssiere, A., Najem, B., Pathak, A., Xhae't, O., Naeije, R. & van de Borne, P. Chemoreflex and metaboreflex responses to static hypoxic exercise in aging humans. *Med Sci Sports Exerc* 38: 305–312, 2006.
- 37) Hurford WE., Hong SK., Park YS., Ahn DW., Shiraki K., Mohri M., Zapol WM. Spenic contraction during breath-hold diving in the Korean ama. *J App Physiol* 69: 932-936, 1990.
- 38) Irving L. Bradycardia in human divers. *J Appl Physiol* 18: 489-491, 1963.
- 39) Kang DH., Park YS., Park. YD, Lee IS., Yeon DS., et al. Energetics of wet-suit diving in Korean women divers. *J Appl Physiol* 54: 1702-1707, 1983.
- 40) Knight DR., Horvath SM. Effect of hydrostatic pressure on plasma concentrations of norepinephrine during cold water immersion. *Undersea Biomedical Rererch* 14: 1-10, 1987.
- 41) Kooyman GL. *Diverse divers: physiology and behavior*. Zoophysiology vol 23. Springer – Verlag, Berlin, p 201, 1989.

- 42) Landsberg PG. Bradycardia during human diving. South African Medical Journal 49: 626-630, 1975.
- 43) Lin YC., Lally DA., Moore TO., Hong SK. Physiological and conventional breath-hold breaking points. J Appl Physiol 37: 291-296, 1974.
- 44) Lin YC., Moore TO., McNamara JJ., Hong SK. O<sub>2</sub> consumption and conservation during apnea in the anesthetized dog. Respiration Physiology 24: 313-324, 1975.
- 45) Lin YC. Breath-hold diving in terrestrial mammals. Exercise and Sport Sciences Reviews 10: 270-307, 1982.
- 46) Lin YC., Hong SK., Shida KK. Effect of hypercapnia, hypoxia and rebreathing on heart rate response during apnea. J Appl Physiol 54: 166-171, 1983a.
- 47) Lin, Y.C. Applied Physiology of diving. Sports Med 5: 41–56, 1988.
- 48) Lindholm, P., Sundblad, P. & Linnarsson, D. Oxygenconserving effects of apnea in exercising man. J Appl Physiol 87: 2122–2127, 1999.
- 49) Lindholm, P., Nordh, J. & Linnarsson, D. Role of hypoxemia for the cardiovascular responses to apnea during exercise. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 283: 1227–1235, 2002.
- 50) Lindholm, P. & Lundgren, E.G. The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. J Appl Physiol 106: 284–292, 2009.
- 51) Liner MH., Ferrigno M., Lundgren CE. Alveolar gas exchange during simulated breath-hold diving to 20 m. Undersea Hyperb Med 20: 27-38, 1993.
- 52) Marabotti, C., Belardinelli, A., L'Abbate, A., Scalzini, A., Chiesa, D., Cialoni, D., Passera, M. & Bedini, R. Cardiac function during breath-hold diving in humans: an echocardiographic study. Undersea Hyperb Med 35: 83–90, 2008.
- 53) Marabotti, C., Scalzini, A., Cialoni, D., Passera, M., L'Abbate, A. & Bedini, R. Cardiac changes induced by immersion and breath-hold diving in humans. J Appl Physiol 106: 293–297, 2009a.

- 54) Marabotti, C., Scalzini, A., Cialoni, D., Passera, M., Ripoli, A., L'Abbate, A. & Bedini, R. Effects on depth and chest volume on cardiac function during breath-hold diving. *Eur J Appl Physiol* 106: 683–689, 2009b.
- 55) Moore, R., Sansores, R., Guimond, V. & Abboud, R. Evaluation of cardiac output by thoracic electrical bioimpedance during exercise in normal subjects. *Chest* 102: 448–455, 1992.
- 56) Morelli L. e P.G. Data: Thoracic radiological changes during deep breath-hold diving (abstract). In “ Proceedings of the Workshop on the Physiology of Deep Breath-Hold Diving” edito da P.G. Data e S. Lahiri, Chieti (Italia), 1991.
- 57) Perini, R., Gheza, A., Moia, C., Sponsiello, N. & Ferretti, G. Cardiovascular time course during prolonged immersed static apnoea. *Eur J Appl Physiol* 110: 277–283, 2010.
- 58) Persson, P.B. & Henriksson, J. Good publication practice in physiology. *Acta Physiol Scand* 203: 403–407, 2011.
- 59) Richard, R., Lonsdorfer-Wolf, E., Charloux, A., Doutreleau, S., Buchheit, M., Oswald-Mammoser, M., Lampert, E., Mettauier, B., Geny, B. & Lonsdorfer, J. Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. *Eur J Appl Physiol* 85: 202–207, 2001.
- 60) Rowell, L.B. & O'Leary, D.S. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 69: 407–418, 1990.
- 61) Schagatay E. The significance of the human diving reflex. In Roede M, Wind J, Patrick J., Reynolds W. (eds) *The aquatic ape: fact or fiction?* Souvenir, London, pp 247-254, 1991.
- 62) Schagatay E., van Kampen M., Anderson J. Effects of repente apneas on apneic time and diving response in nondivers. *Undersea Hyperbaric Med* 26: 143-149, 1999.
- 63) Schagatay E., Andersson JP., Hallen M., et al. Selected contribution: role of spleen emptying in prolonging apneas in humans. *J Appl Physiol* 90: 1623-9, 2001.

- 64) Schagatay E., Lodin-Sundström A. Fasting improves static apnea performance in elite divers without enhanced risk of syncope. *Eur J Sport Sci* at press, 2012.
- 65) Schilling CW., Carlston CB., Mathias RA. The physician's guide to diving medicine, Plenum Press, New York, 1984.
- 66) Scholander PF., Hammel HT., Le Messurier H., Hemingsen E, Garey W. Circulatory adjustment in pearl divers. *J Appl Physiol* 17: 184-190, 1962.
- 67) Scott PA., Candler M. Terrestrial and sub aquatic apneic bradycardial responses under resting and working conditions. *Journal of Sportsmedicine and Physical Fitness*, in press. 1990.
- 68) Shiraki K., Konda N., Sagawa S., Park YS, Komatsu T, et al. Diving pattern of Tsushima male breath-hold divers (Katsugi). *Undersea Biomedical Research* 12: 439-452, 1985.
- 69) Shiraki, K., Konda, N., Sagawa, S., Lin, Y.C.&Hong, S.K. Cardiac output by impedance cardiography during head-out water immersion. *Undersea Biomed Res* 13: 247–256, 1986.
- 70) Sieber, A., L'Abbate, A., Passera, M., Garbella, E., Benassi, A. & Bedini, R. Underwater study of arterial blood pressure in breath-hold divers. *J Appl Physiol* 107: 1526– 1531, 2009.
- 71) Sterba JA., Lundgren CEG. Diving bradycardia and breath-holding time in man. *Undersea Biomed Res* 12: 139-150, 1985.
- 72) Strange, S., Secher, N.H., Pawelczyk, J.A., Karpakka, J., Christensen, N.J., Mitchell, J.H. & Saltin, B. Neural control of cardiovascular responses and of ventilation during dynamic exercise in man. *J Physiol* 470: 693–704, 1993.
- 73) Stromme SB., Karem D., Elsner R. Diving bradycardia during rest and exercise and its relation to physical fitness. *J Appl Physiol* 28: 614-621, 1970.
- 74) Tanaka, K., Yoshimura, T., Sumida, S., Mitsuzono, R., Tanaka, S., Konishi, Y., Watanabe, H., Yamada, T. & Maeda, K. Transient responses in cardiac function below, at, and above anaerobic threshold. *Eur J Appl Physiol* 55: 356–361, 1986.

- 75) Thomas, S.H.L. Impedance cardiography using the Sramek-Bernstein method: accuracy and variability at rest and during exercise. *Br J Clin Pharmac* 34: 467–476, 1992.
- 76) Tocco, F., Crisafulli, A., Melis, F., Porru, C., Pittau, G., Milia, R. & Concu, A. Cardiovascular adjustments in breath-hold diving: comparison between divers and non divers in simulated dynamic apnoea. *Eur J Appl Physiol* 112: 543–554, 2012.
- 77) Warburton, D.E.R., Haykowsky, M.J.F., Quinney, H.A., Humen, D.P. & Teo, K.K. Reliability and validity of measures of Cardiac Output during incremental to maximal aerobic exercise. Part II: novel techniques and new advances. *Sports Med* 27: 241–260, 1999.
- 78) Whayne TF., Smith NT., Eger II EI., Stoelting RK. Whitcher GE. Reflex cardiovascular responses to simulated diving. *Angiologia* 23: 500-508, 1972.

FIGURE





**Fig.1.** 3' in immersione a testa fuori in eupnea



**Fig.2.** 3' apnea statica immersi in superficie



**Fig.3.** 3' apnea statica a una profondità di 3 metri



**Fig.4.** Apnea dinamica massima in superficie



**Fig.5.** Apnea dinamica massima ad profondità di 3 metri



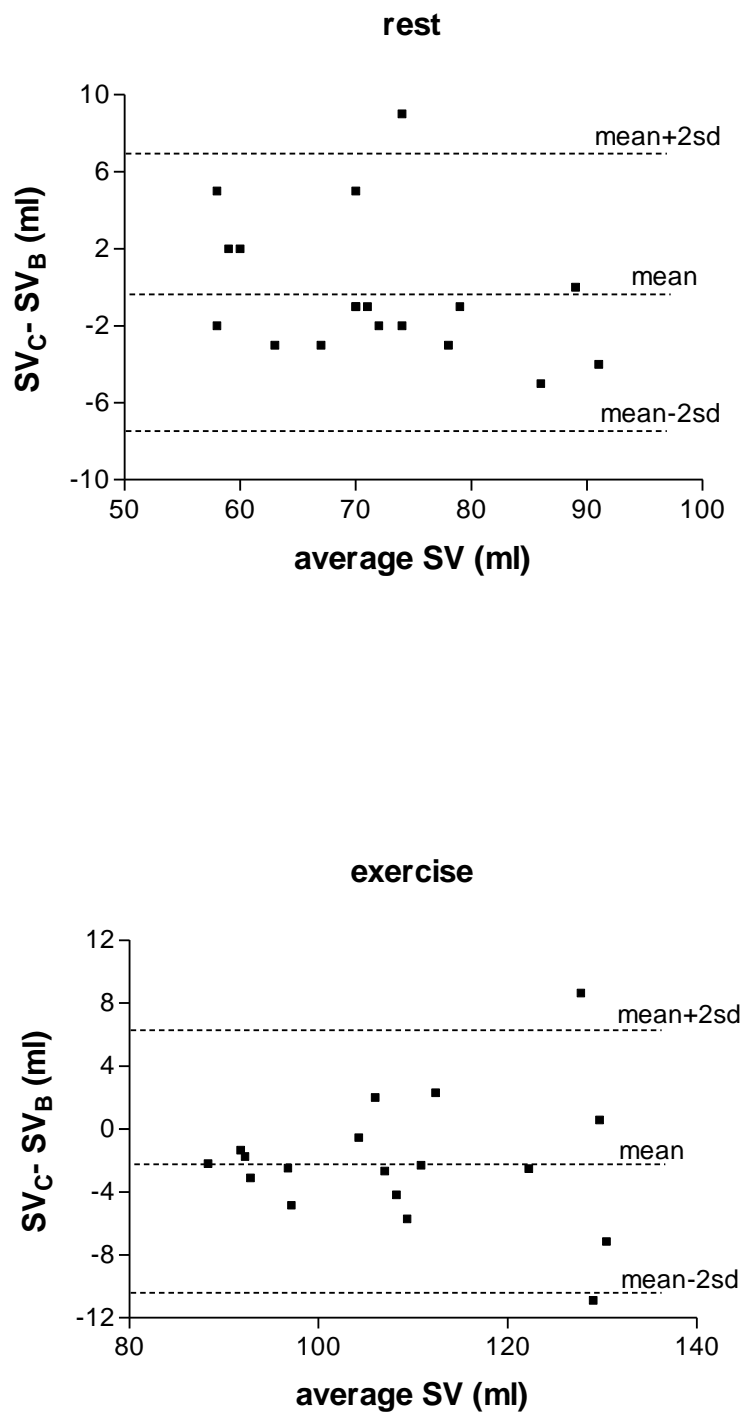
**Fig.6.** Cavo ed elettrodi adesivi applicati sul torace ed il collo di un apneista.



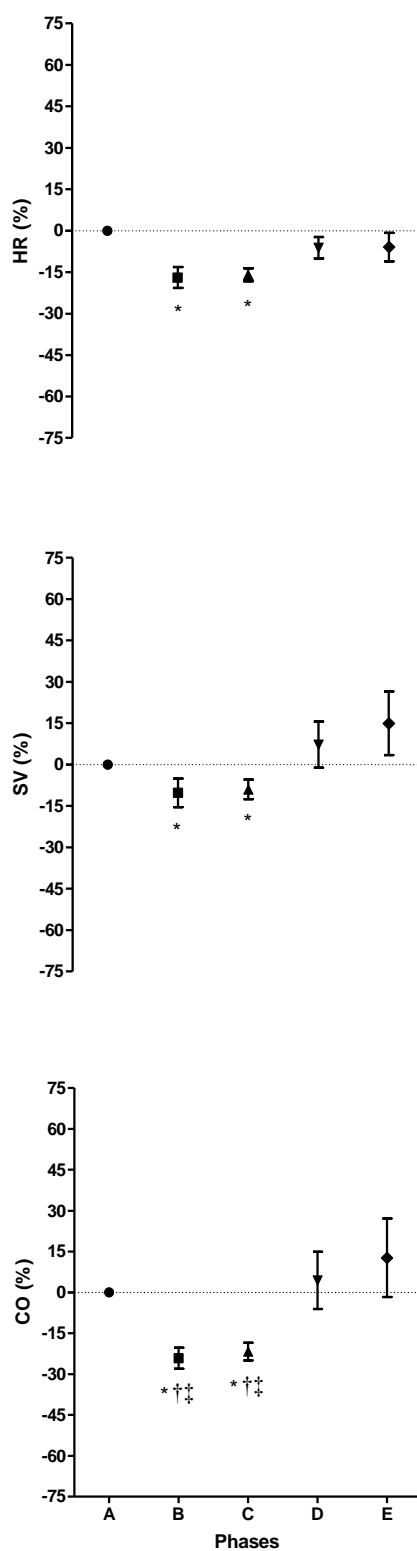
**Fig.7.** Torcia subacquea modificata, in grado di contenere il cardiografo ad impedenza portatile.

## GRAFICI E TABELLE

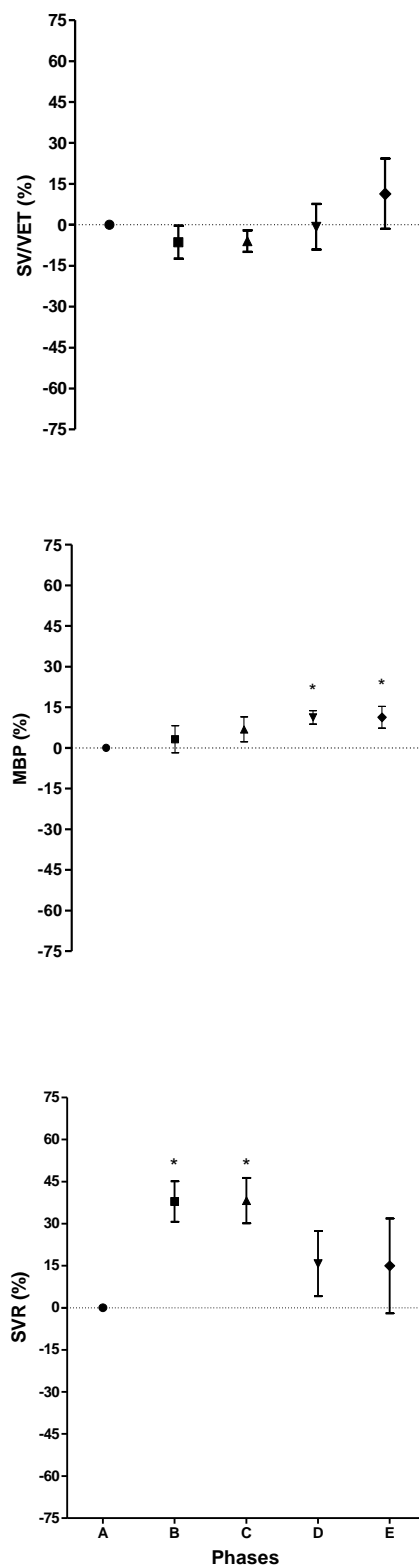
**Grafico 1.** Statistica di Bland e Altman (1986). Confronto tra i valori della SV ricavati col New Core rispetto a quelli acquisiti con il NCCOM3, sia in condizioni di riposo (**rest**) che durante esercizio (**exercise**).



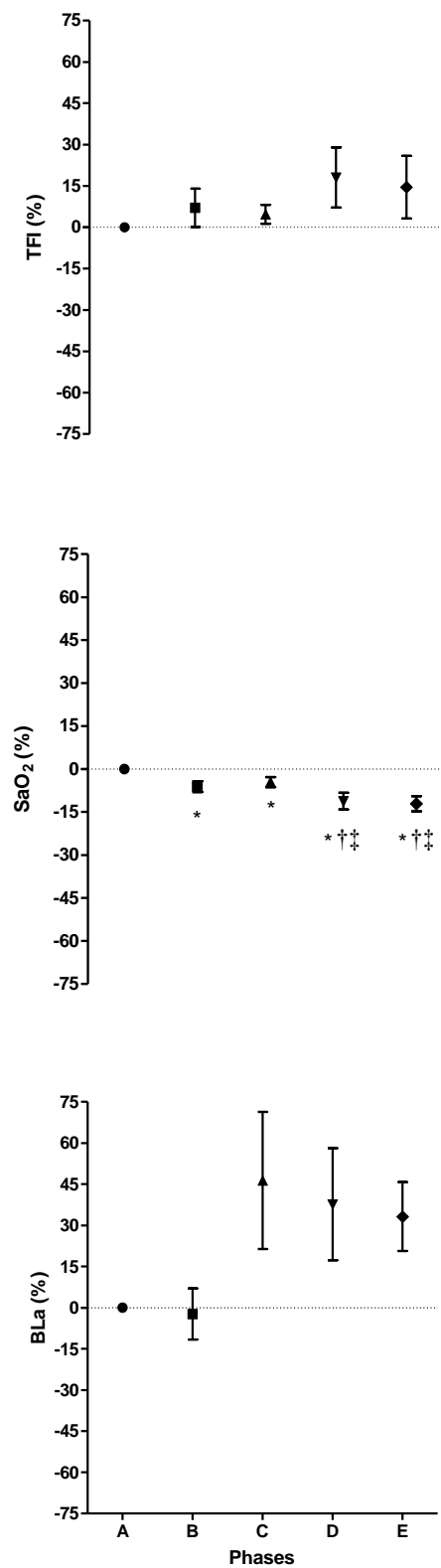
**Grafico 2.** Time Course della Frequenza Cardiaca (**HR**), Gittata Sistolica (**SV**) e Portata Cardiaca (**CO**) durante le 5 diverse fasi del protocollo. I valori sono espressi come variazione percentuale rispetto allo steady state precedente l'apnea.



**Grafico 3.** Time Course della Gittata Sistolica/Tempo di Eiezione Ventricolare (**SV/VET**), Pressione Arteriosa Media (**MBP**) e Resistenze Vascolari Periferiche (**SVR**), durante le 5 diverse fasi del protocollo. I valori sono espressi come variazione percentuale rispetto allo steady state precedente l'apnea.



**Grafico 4.** Time Course dell' Indice dei Fluidi Intratoracici (**TFI**), della Saturazione di Ossigeno del Sangue Arterioso (**SaO<sub>2</sub>**) e del Lattato Ematico (**BLa**), durante le 5 diverse fasi del protocollo. I valori sono espressi come variazione percentuale rispetto allo steady state precedente l'apnea.



**Tabella 1.** Valori a riposo (basali) dei dati emodinamici e metabolici, nel corso del test A.

<b>BLa</b> (mMol·L <sup>-1</sup> )	<b>SaO<sub>2</sub></b> (%)	<b>HR</b> (beats·min <sup>-1</sup> )	<b>SV</b> (ml)	<b>CO</b> (L·min <sup>-1</sup> )	<b>SV/VET</b>	<b>MBP</b> (mmHg)	<b>SVR</b> (dyne·s/cm <sup>5</sup> )	<b>TFI</b> (ohms)
1.3±0.2	97.3±3.6	70.6±9.1	53.4±9.5	3.8±0.8	177.7±34.4	87.4±8.8	1921.7±389.4	26.7±3.3

I valori sono presentati come medie ± DS; **BLa**, lattato ematico; **SaO<sub>2</sub>**, saturazione di ossigeno del sangue arterioso; **HR**, frequenza cardiaca; **SV**, gittata sistolica; **CO**, portata cardiaca; **SV/VET**, gittata sistolica/tempo di eiezione ventricolare; **MBP**, pressione arteriosa media; **SVR**, resistenze vascolari periferiche; **TFI**, indice dei fluidi intratoracici.